

**PLASMAPROTEINKONZENTRATION
IN NORMALEN UND PATHOLOGISCHEN
NASENSEKRETEN**

Rainer Naumann

1980

Aus der Hals-Nasen-Ohren-Klinik

der Universität München

Direktor: Prof. Dr. H. H. Naumann

PLASMAPROTEINKONZENTRATION IN NORMALEN

UND PATHOLOGISCHEN NASENSEKRETEN

Inaugural - Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin

an der Ludwig-Maximilians-Universität zu München



vorgelegt von

Rainer Naumann

aus Mainburg

1979

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Schorn
Mitberichterstatter: Prof. Naumann
Dekan: Prof. Spann
Tag der mündlichen Prüfung: 18.12.1980



Herrn Prof. Dr. H. H. Naumann danke ich für
die guten Arbeitsbedingungen in der HNO-Klinik.

Herzlich bedanken möchte ich mich bei
Frau Professor Dr. K. Schorn, die mir
beim klinischen Teil der Arbeit mit Rat und
Tat zur Seite stand.

Mein besonderer Dank gilt
Herrn Prof. Dr. K. Hochstraßer für seine Hinweise
zur experimentellen Durchführung
sowie seinen Mitarbeiterinnen Frau Heindl und
Frl. Lempart, die mir in allen technischen Fragen
behilflich waren.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548319_0014

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
A) EINLEITUNG	2
B) THEORETISCHER TEIL	6
I. Die Zusammensetzung des Nasensekrets	6
II. Plasmaproteine im Nasensekret	10
C) ERGEBNISSE	15
I. Plasmaproteinkonzentrationen im normalen Nasensekret	15
II. Plasmaproteinkonzentrationen im Nasensekret bei verschiedenen Rhinopathien	25
III. Diskussion	35
D) EXPERIMENTELLER TEIL	40
I. Patientenauswahl	40
II. Sekretaufbereitung	40
III. Die Sekrettrockensubstanz	41
IV. Immunelektrophorese	42
1. Prinzip	42
2. Reagentien und Geräte	43
3. Methode	44
4. Auswertung	49
E) ZUSAMMENFASSUNG	51
F) TABELLEN	52
G) LITERATURVERZEICHNIS	60

A) EINLEITUNG

Waren um 1900 nur etwa sechs Plasmaproteine bekannt, so sind es heute schon über 200; schätzte man damals ihre Bedeutung eher gering ein, so hat ihre Bestimmung in der modernen Medizin einen festen Platz eingenommen. Neue, empfindliche Nachweismethoden wie Gelfiltration, Chromatographie und Immunelektrophorese haben unsere Kenntnisse über Serumproteine erweitert und dazu geführt, daß auch kleinste Mengen nachgewiesen werden können (28). Dadurch wurde es möglich, neben dem Serum auch andere Körperflüssigkeiten auf ihren oft niedrigen Gehalt an Proteinen zu untersuchen und diesen diagnostisch auszuwerten.

So enthält normaler Urin in geringer Konzentration eine ganze Anzahl von verschiedenen Plasmaproteinen sowie spezifische Glycoproteine aus dem Urogenitaltrakt (7). Auch der Proteingehalt des Liquor cerebrospinalis ist auffallend niedrig: Man findet hauptsächlich niedermolekulare Plasmaproteine, bemerkenswert ist der hohe Anteil an Praealbumin (13). Um Proteine aus dem Plasma im Magen-Darm-Trakt nachzuweisen, ist eine spezielle Abnahmetechnik erforderlich, um das Eiweiß vom Abbau durch die Verdauungsenzyme zu schützen (13).

Im HNO-Bereich interessiert - neben dem Nasensekret - noch die Proteinzusammensetzung von Speichel und Tracheobronchialsekret. Verschiedene Untersuchungen (16, 17) zeigen, daß Albumin und Immunglobulin A (Ig A) die mengenmäßig dominierenden Plasmaproteine darstellen, während andere Serumproteine in sehr viel kleinerer Konzentration auftreten. Neben diesen unspezifischen Bestandteilen findet man noch die für das jeweilige Sekret typischen Proteine wie Amylase im Speichel oder Lactoferrin im Bronchialsekret.

Bei der Bestimmung der Plasmaproteine im Nasensekret hat sich gezeigt, daß die Ergebnisse zum Teil erheblich differieren. Dies liegt hauptsächlich an folgenden Punkten:

1. Ältere Untersuchungen von 1962 und 1964 (1, 24) verwenden zur Identifizierung der Serumproteine unspezifisches Antiserum; es werden nur global alpha-, beta- und gamma-Banden bestimmt. Erst später wird das Nasensekret mit Hilfe der "Einfachen Radialen Diffusion", bei der spezifische Antiseren Verwendung finden, untersucht (22, 25).
2. Die Proteinzusammensetzung des Nasensekrets ist Schwankungen unterworfen, die u. a. von Schlaf-Wach-Rhythmus, Blutdruck, psychischen und vegetativen Faktoren abhängig sind (21).
3. Es existieren drei verschiedene Abnahmetechniken: zum einen das Austreiben von Sekret in eine Petri-

schale durch kräftiges Schneuzen. Diese Methode hat den Nachteil, daß sie nur zur Gewinnung pathologischer, in großer Menge produzierter Sekrete verwendet werden kann. Außerdem ist die Verdunstung so groß, daß exakte Messungen nicht mehr möglich sind.

Eine weitere Möglichkeit zur Sekretgewinnung stellt die Nasenspülung dar; diese ist zwar schleimhautschonend, erlaubt aber durch ihren hohen Verdünnungsgrad keine exakten Bestimmungen. Trotzdem wurde bei einigen Untersuchungen dieses Verfahren angewandt (1, 24, 25).

Als Methode der Wahl gilt jedoch das Einlegen von Filterpapierstreifen in die Nase, wobei diese Kontakt mit der Schleimhaut haben und vom Sekret durchtränkt werden können. Mehrere Autoren (15, 18, 22) haben dieses Verfahren bei ihren quantitativen Messungen benützt.

Das Hauptaugenmerk bei der Untersuchung des Nasensekrets richtete sich auf die Immunglobuline und hier besonders auf das Ig A (1, 22, 24). Von den anderen Serumproteinen sind bisher nur Albumin und Transferrin nachgewiesen worden, obwohl bei der Immunelektrophorese noch zusätzliche Banden auftraten (25). Da die Albuminkonzentration im Sekret hoch ist und leicht gemessen werden kann, diente sie häufig als Bezugsgröße bei der Bestimmung anderer Substanzen (27). Albumin ist jedoch als Bezugsgröße

nur dann angebracht, wenn sich seine Konzentration im Nasensekret nicht stark ändert.

Aufgabe dieser Arbeit ist es, Albumin, aber auch andere Plasmaproteine im Nasensekret nachzuweisen und quantitativ zu bestimmen, wobei folgende Aspekte im Vordergrund stehen:

1. Aufstellung von Normbereichen für Serumproteine im Nasensekret.
2. Bestimmung der Proteinmuster bei verschiedenen Erkrankungen der Nase und ihrer Nebenhöhlen.
3. Möglichkeiten der Differentialdiagnose.
4. Eignung bestimmter Proteine als Bezugsgrößen.

B) THEORETISCHER TEIL

I. Die Zusammensetzung des Nasensekrets

Bei der Analyse von Sekreten muß man spezifische Bestandteile von solchen, die durch Transsudation aus dem Serum in diese gelangen, unterscheiden.

Speziell für das Nasensekret bedeutet dies, daß spezifische Substanzen von den Becherzellen des Epithels und den Schleimhautdrüsen der Tunica propria sezerniert werden (15), während umstritten ist, ob und in welchem Ausmaß eine Transsudation stattfindet.

So schlossen Ingelstedt und Ivstam (11, 12) aus ihren Versuchen mit Fluorescein, daß alle Bestandteile des Nasensekrets im Normalfall aus den Schleimdrüsen stammen und eine Transsudation aus den Kapillaren nur in pathologischen Situationen auftritt.

Neuere Studien mit radioaktiv markierten Proteinen haben jedoch ergeben, daß das Albumin im Nasensekret aus dem Plasmapool stammt (2).

Aus dem Kapillarnetz stammen auch die Grundbausteine zur Synthese der spezifischen Substanzen sowie Elektrolyte und Wasser, das mit 95 % den Hauptbe-

standteil des Sekrets ausmacht. Während bei steigender Sekretionsrate der Wasseranteil auf 99 % steigt (19), nimmt die Konzentration an Mucin, einem Glycoprotein, ab. Dieses Mucin, auf das die Hälfte der organischen Komponenten entfällt, ist ein spezifischer Bestandteil des Nasensekrets und verantwortlich für dessen Viskosität und Elastizität (4).

Von den Serumproteinen, die mit 40 mg/1 g Nasensekret einen großen Anteil an den organischen Substanzen ausmachen, sind die γ -Globuline am besten untersucht. M y g i n d (22) findet folgende Werte:

Ig G = 2,6 %
Ig A = 24 % (Serumwerte $\hat{=}$ 100 %)
Ig E = 6 %

Neben Ig A, das einen besonderen Schutzfaktor gegen Virusinfektionen darstellt, ist besonders das Auftreten von Ig E interessant. Dieses Immunglobulin tritt sowohl bei Gesunden als auch bei Rhinitispatienten im Nasensekret auf, besonders hoch ist die Konzentration aber bei der allergischen Rhinitis - hier ist eine gute Diagnosemöglichkeit gegeben (22). Neben den γ -Globulinen ist Albumin das mengenmäßig dominierende Plasmaprotein im Nasensekret, eine Konzentration von 57 mg/100 ml wird angegeben (15). Daneben wurde eine Anzahl weiterer Proteine nachgewiesen, aber nicht quantitativ bestimmt.

Schon sehr früh wurde das Enzym Lysozym im Nasensekret entdeckt. In seiner Eigenschaft als Mucopolysaccharidase ist es in der Lage, grampositive Bakterienzellwände aufzulösen. Eine verminderte Sekretkonzentration findet man bei akuten Erkrankungen im Nasenraum (3). Die Hyaluronidase beeinflußt die Durchlässigkeit der Gewebe und damit auch deren Flüssigkeitsgehalt (31).

Erst kürzlich konnten die Normbereiche für die verschiedenen Intermediärstoffwechselenzyme (wie GOT, GPT, LDH) im Nasensekret aufgestellt werden (27). Durch detaillierte vergleichende Messungen im Sekret und im Serum bei verschiedenen Erkrankungen mit hohem Enzymspiegel wurde erwiesen, daß die Enzyme von der Mucosa selbst produziert werden und nicht durch Transsudation in das Sekret gelangen. Durch unterschiedliche Enzymmuster bei verschiedenen Rhinopathien ergeben sich gute Möglichkeiten zur klinischen Diagnostik.

Diese werden noch verbessert, wenn man neben den Intermediärstoffwechselenzymen auch die "Sauren Hydrolasen" berücksichtigt. Es ist möglich, einzelne Hydrolasen zu bestimmen, Normbereiche aufzustellen und schließlich bestimmte Krankheitsbilder aufgrund ihres Enzymmusters zu differenzieren (27).

In Zusammenhang mit Abwehrfunktionen des Nasensekrets stehen die Proteaseninhibitoren. Sie neutralisieren proteolytische Enzyme, die aus Infektionserregern, befallenem Gewebe und beim Leukozytenzerfall freigesetzt werden (9).

70 % der antiproteolytischen Aktivität im physiologischen Nasensekret entfällt auf den säurestabilen, schleimhautspezifischen Inhibitor (Mol.gew. 15000), der Trypsin, Chymotrypsin und leukozytäre Proteasen inaktiviert, während bakterielle Proteasen nicht gehemmt werden (8). Der α -1-Trypsininhibitor, ein Serumprotein mit einem Mol.gew. von 45000, besitzt ein breites Hemmspektrum: Trypsin, Chymotrypsin, Plasmin, Thrombin, Elastase und leukozytäre Proteasen fallen darunter (10).

Anorganische Substanzen stellen normalerweise einen Anteil von 0,8 % des Frischgewichts, wobei die Elektrolytzusammensetzung des Nasensekrets eher der Interstitiellen Flüssigkeit als dem Plasma gleicht (15). Folgende Mittelwerte wurden festgestellt:

Na^+	= 128	$\mu\text{g Eq/g}$	(Mikroäquivalent/g Trockensubstanz)
K^+	= 17,3	$\mu\text{g Eq/g}$	
Ca^{++}	= 4,9	$\mu\text{g Eq/g}$	
Cl^-	= 139	$\mu\text{g Eq/g}$	

Die Gruppe der niedermolekularen Substanzen im Nasensekret umfaßt Bradykinin, Histamin (20) sowie freie Aminosäuren, deren Sekretgehalt mit Werten von 4,1 bis 13,9 $\mu\text{U/g}$ kaum von der Serumkonzentration abweicht (6).

II. Plasmaproteine im Nasensekret

Mit Hilfe spezifischer Antiseren gelang es, die folgenden Plasmaproteine im Nasensekret quantitativ zu bestimmen. In tabellarischer Form sind kurz ihre wichtigsten Eigenschaften und Merkmale festgehalten (7, 13, 23).^x

Albumin

Mol.gew.	69000
KH.-Anteil	0,08 %
C _{Serum}	3500 - 5500 mg/100ml
Anzahl AS	610
Struktur	langgestreckte Polypeptidkette
Funktion	unspezifischer Transport, Pufferung, Proteinreserve Aufrechterhaltung des osmotischen Drucks
Diagnostische Hinweise:	↓ bei fast allen entzündlichen Erkrankungen Leberschäden Proteinverlustsyndrom

^xAbkürzungen: Mol.gew.: Molekulargewicht
KH : Kohlenhydrat
C : Konzentration
AS : Aminosäuren
↑ : Konzentrationserhöhung
↓ : Konzentrationserniedrigung

Saures- α_1 -Glycoprotein

Mol.gew.	44 100
KH ₂ -Anteil	41 %
^C Serum	75 - 100 mg/100 ml
Anzahl AS	204
Funktion	unbekannt, Progesteron- inaktivierung?
Diagnostische Hinweise:	$\uparrow$ Akute und chronische Entzündungen "Stress-Syndrom" Maligne Tumoren $\downarrow$ Leberschäden, nephrotisches Syndrom

α_1 -Antitrypsin

Mol.gew.	45 000
KH ₂ -Anteil	12,4 %
^C Serum	210 - 400 mg/100 ml
Anzahl AS	381
Funktion	Inaktivierung von Trypsin, Chymotrypsin, Plasmin, leukozytäre Proteasen
Diagnostische Hinweise:	$\uparrow$ Akute und chronische Entzündungen, Stress, Maligne Tumoren $\downarrow$ Lungenemphysem, schwere Lebererkrankungen nephrotisches Syndrom

Haptoglobin

Mol.gew.	(100 000)
KH.-Anteil	19,3 %
^C Serum	30 - 290 mg/100 ml
Anzahl AS	734
Struktur	Polymorphismus (<u>Hp 1 - 1 homogen</u> , Hp 2 - 1; Hp 2 - 2)
Funktion	Hämoglobinbindung
Diagnostische	
Hinweise:	↑ Entzündungen, Gewebstnekrosen ↓ Hämolyt. Anämie Akute Hepatitis, Leberschäden

α₂-Makroglobulin

Mol.gew.	820 000
KH.-Anteil	8,4 %
^C Serum	220 - 380 mg/100 ml
Anzahl AS	6900
Struktur	großes Polymer aus mehreren Untereinheiten
Funktion	Proteaseninhibitor mit breitem Spektrum
Diagnostische	
Hinweise:	↑ Infektionen (bes. Niere)

Inter- α -Trypsin Inhibitor

Mol.gew.	160 000
KH.-Anteil	9 %
C _{Serum}	40 - 70 mg/100 ml
Struktur	"Big-Kunitz-type"-Inhibitor
Funktion	Proteaseinhibitor (Trypsin)
Diagnostische	
Hinweise:	Unbekannt

α_{2HS} -Glycoprotein

Mol.gew.	49 000
KH.-Anteil	13 %
C _{Serum}	40 - 85 mg/100 ml
Anzahl AS	402
Funktion	unbekannt
Diagnostische	
Hinweise:	↓Bei Tumoren

Transferrin

Mol.gew.	90 000
KH.-Anteil	5,8 %
C _{Serum}	200 - 400 mg/100 ml
Anzahl AS	827
Funktion	Eisenbindung (neutralisiert überschüssiges Fe) Eisentransport
Diagnostische Hinweise:	↑ Akute Hepatitis, chronische Eisenmangelanämie, Schwangerschaft ↓ Entzündungen, neph. Syndrom, Proteinverlustsyndrom

β₂-Glycoprotein I

Mol.gew.	40 000
KH.-Anteil	19 %
C _{Serum}	15 - 30 mg/100 ml
Anzahl AS	nicht geklärt
Funktion	unbekannt
Diagnostische Hinweise:	Unbekannt

C) ERGEBNISSE

I. Plasmaproteinkonzentrationen im normalen Nasensekret

Die quantitative Bestimmung der Plasmaproteine erfolgte zunächst im Nasensekret von gesunden Probanden, um einen Überblick zu bekommen, in welchem Bereich die Konzentrationen der einzelnen Proteine liegen.

In Anlehnung an die neuere Literatur (15, 18, 22) verwendeten wir zur Sekretgewinnung Baumwoll-Tampons, die in die Nase eingelegt werden (s. Einleitung). Dieses Verfahren zeichnet sich sowohl dadurch aus, daß es bei richtiger Anwendung schleimhautschonend ist, als auch durch den niedrigen Verdünnungsgrad des Sekrets, der erst exakte quantitative Messungen ermöglicht.

Diese Messungen wurden mit Hilfe der "Raketentechnik", einer modifizierten Form der herkömmlichen Immunelektrophorese durchgeführt (30). Das Besondere an dieser Technik ist die Verwendung von spezifischen monovalenten Antiseren; dies gestattet den Nachweis von äußerst geringen Konzentrationen.

Da die Sekretausbeute von Proband zu Proband oft sehr unterschiedlich war, wurde die Absolutmenge des jeweiligen Plasmaproteins in Relation zur Menge der Sekretrrockensubstanz gesetzt.

Das Albumin wurde im Nasensekret von 32 Probanden ohne pathologische Veränderungen im Bereich der Nase und ihrer Nebenhöhlen bestimmt. Die Werte differierten zwischen 10 % und 28 % Albumin, bezogen auf die Trockensubstanz; damit war Albumin das Plasmaprotein, das in der höchsten Konzentration vorkam. Ein Häufigkeitsmaximum zeigte sich jedoch nicht. Die Berechnung des Mittelwertes ergab 18,7 %; Standardabweichung $\pm 5,3$ % (Abb. 1; Tab. I).

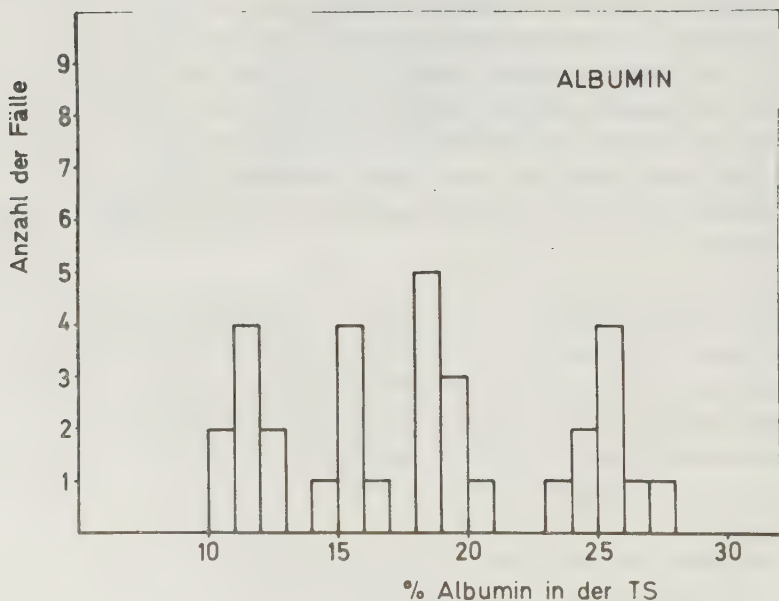


Abb. 1. Häufigkeitsverteilung des Albumins im Nasensekret (in Prozent der Trockensubstanz)

TS $\hat{=}$ Trockensubstanz

Auf den Haptoglobingehalt des Normalsekrets hin untersuchten wir 32 Personen. Dieser variierte nur in relativ engen Grenzen: So lagen über 2/3 der Werte im Bereich zwischen 0,4 % und 0,9 % Trockensubstanz, während Konzentrationen von 1 % - 2 % selten vorkamen. Dies drückte sich auch in Mittelwert (0,72 %) und Standardabweichung ($\pm$ 0,3 %) aus (Abb. 2; Tab. II).

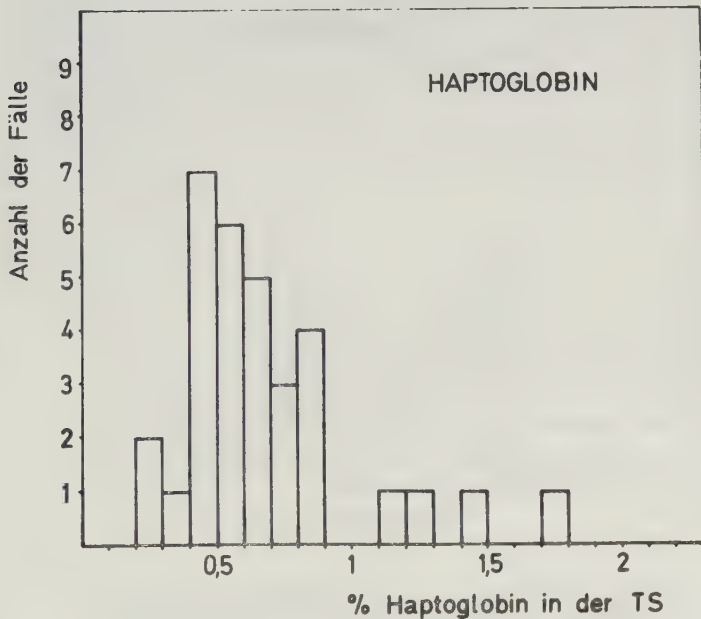


Abb. 2. Häufigkeitsverteilung des Haptoglobins im Nasensekret (in Prozent der Trockensubstanz)
TS $\hat{=}$ Trockensubstanz

Die Transferrinkonzentration wurde im Nasensekret von 32 gesunden Probanden gemessen. Wir ermittelten Werte zwischen 0,7 % und 2 % Trockensubstanz. Ein Häufigkeitsmaximum konnte nicht gefunden werden. Der Mittelwert lag bei 1,35 %, die Standardabweichung bei $\pm 0,4$ % (Abb. 3; Tab. III).

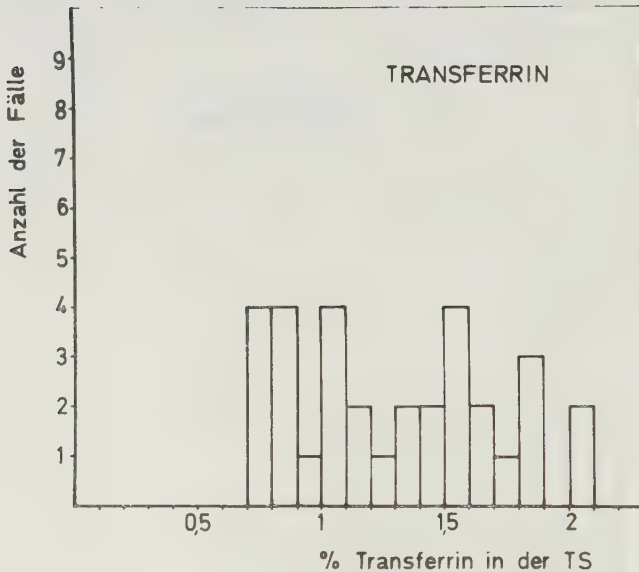


Abb. 3. Häufigkeitsverteilung des Transferrins im Nasensekret (in Prozent der Trockensubstanz)
TS $\hat{=}$ Trockensubstanz

Beim α_2 -Makroglobulin fielen die Werte bei 28 untersuchten Personen in den Bereich von 0,1 % - 0,8 % Trockensubstanz. Die Verteilung war gleichmäßig, höhere Konzentrationen traten nicht auf (Mittelwert 0,46 %, Standardabweichung $\pm$ 0,21 %) (Abb. 4; Tab. IV).

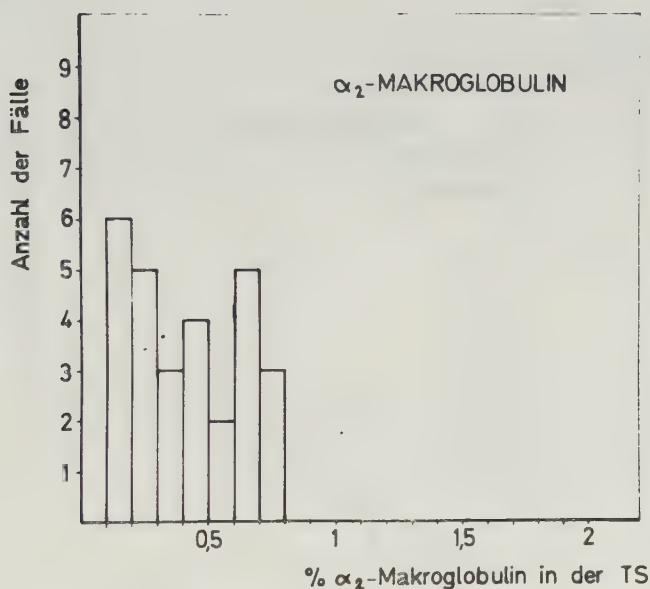


Abb. 4. Häufigkeitsverteilung des α_2 -Makroglobulins im Nasensekret (in Prozent der Trockensubstanz)
TS $\hat{=}$ Trockensubstanz

Die Untersuchung der α_1 -Antitrypsin-Konzentration bei 32 Personen führte zu Werten von 0,4 % - 1,3 % Trockensubstanz. Eine Häufung der Meßergebnisse war zwischen 0,5 % und 0,9 % zu beobachten. Als Mittelwert wurde 0,79 % errechnet, Standardabweichung $\pm$ 0,21 % (Abb. 5; Tab. V).

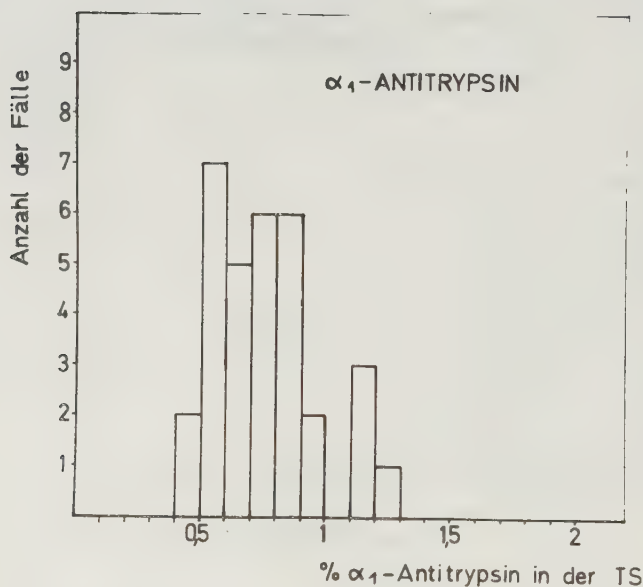


Abb. 5. Häufigkeitsverteilung des α_1 -Antitrypsins im Nasensekret (in Prozent der Trockensubstanz)
TS $\triangleq$ Trockensubstanz

Der Gehalt des Nasensekrets an Saurem α -1-Glycoprotein wurde bei 32 gesunden Probanden bestimmt. Es ergaben sich Werte in einem schmalen Bereich zwischen 0,1 % und 0,6 % Trockensubstanz, wobei ein Maximum bei 0,3 % festgestellt werden konnte. Der errechnete Mittelwert lag bei 0,35 % (Standardabweichung $\pm$ 0,16 %) (Abb. 6; Tab. VI).

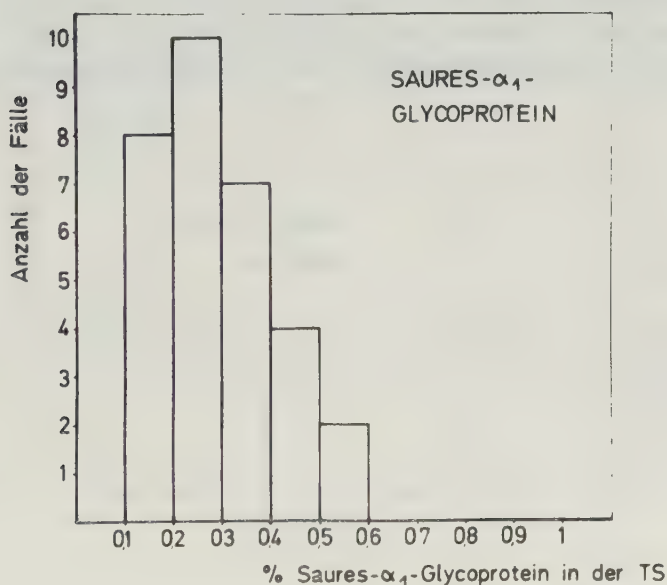


Abb. 6. Häufigkeitsverteilung des Sauren α -1-Glycoproteins im Nasensekret (in Prozent der Trockensubstanz)

TS $\hat{=}$ Trockensubstanz

Der Inter- α -Trypsin-Inhibitor wurde im Nasensekret von 28 Probanden nachgewiesen, in 4 Fällen war dieser Nachweis nicht möglich. Es ist ungeklärt, ob der Inhibitor hier tatsächlich nicht vorhanden war, oder ob das negative Ergebnis auf technische Mängel (schlechtere Qualität des Antiserums) zurückzuführen ist.

Die Ergebnisse streuten zwischen 0,1 % und 0,4 % Trockensubstanz, mit einer leichten Häufung zwischen 0,3 % und 0,4 %. Hierzu paßt der Mittelwert mit 0,31 % und die Standardabweichung mit $\pm 0,11$ % (Abb. 7; Tab. VII).

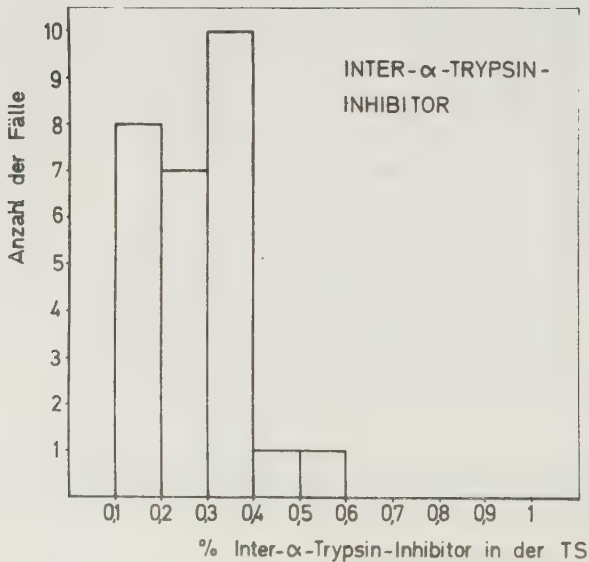


Abb. 7. Häufigkeitsverteilung des Inter- α -Trypsin-Inhibitors im Nasensekret (in Prozent der Trockensubstanz)

TS $\hat{=}$ Trockensubstanz

Der Anteil von α_2 -HS-Glycoprotein am Nasensekret wurde bei 27 Personen untersucht. Die Meßwerte lagen in einem Intervall von 0,1 % bis 0,5 % Trockensubstanz. Die Hälfte davon befand sich zwischen 0,1 % und 0,2 %, oberhalb davon nahm die Häufigkeit konstant ab (Mittelwert $0,26 \% \pm 0,1 \%$) (Abb. 8; Tab. VIII).

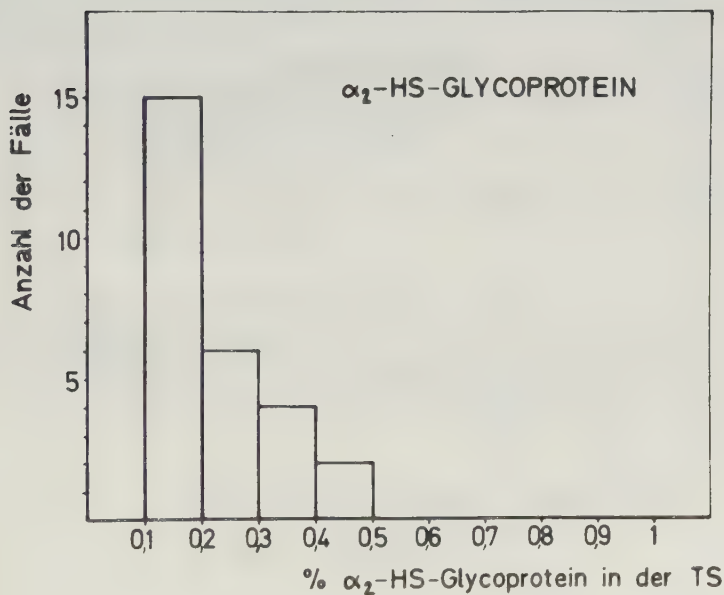


Abb. 8. Häufigkeitsverteilung des α_2 -HS-Glycoproteins im Nasensekret (in Prozent der Trockensubstanz)
TS $\hat{=}$ Trockensubstanz

Das β_2 -Glycoprotein I konnte im Sekret von 20 der insgesamt 23 Probanden gefunden werden. Der Gehalt des Nasensekrets an diesem Protein war sehr gering: Die Werte verteilten sich zwischen 0 und 0,2 % Trockensubstanz, mit einem Mittelwert von $0,13 \% \pm 0,05$ (Abb. 9; Tab. IX).

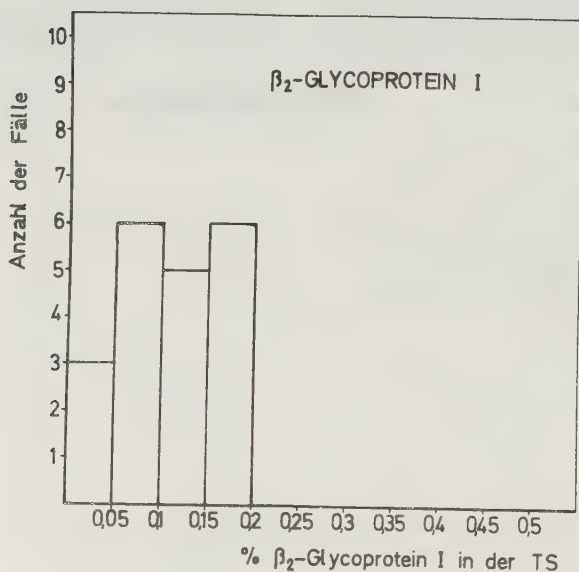


Abb. 9. Häufigkeitsverteilung des β_2 -Glycoproteins im Nasensekret (in Prozent der Trockensubstanz)
TS $\hat{=}$ Trockensubstanz

II. Plasmaproteinkonzentrationen im Nasensekret bei verschiedenen Rhinopathien

Im Anschluß an die Untersuchung der Plasmaproteine im Normalsekret interessierten uns die Verhältnisse bei pathologischen Zuständen der Nasenschleimhaut und der Nasennebenhöhlen. Hierzu wurde nach gesicherter Diagnose der Proteingehalt im Nasensekret bei folgenden Krankheiten bestimmt:

Virusrhinitis

allergische Rhinitis

Sinusitis acuta

(Sin. maxillaris, Sin. ethmoidalis,
Sin. frontalis)

Die Methodik änderte sich nicht, auch wurden die Absolutmengen wiederum zur Sekrettrockensubstanz in Beziehung gesetzt, um den Vergleich zwischen normalem und pathologischem Sekret zu ermöglichen.

Aus Abb. 10 und Tab. X geht hervor, daß der Albumin-Anteil am Normalsekret etwa 20 % der Trockensubstanz ausmacht. Fast um das Doppelte erhöht sind die Werte bei der allergischen Rhinitis, während der Konzentrationsanstieg bei Virusrhinitis und Sinusitis zwar signifikant, aber weniger steil ausgeprägt ist. Die Unterschiede zwischen den untersuchten Rhinopathien sind jedoch zu gering, um eine eindeutige Differentialdiagnose zu ermöglichen.

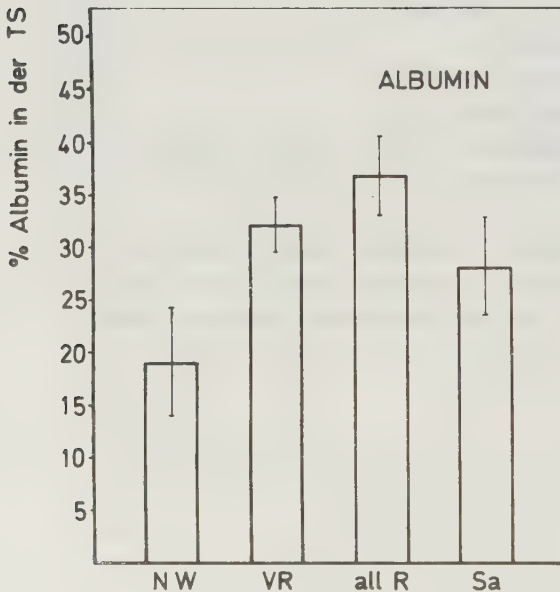


Abb. 10.

Gehalt des Nasensekrets an Albumin (in Prozent der Trockensubstanz) im Normalkollektiv und bei verschiedenen Rhinopathien

TS $\hat{=}$ Trockensubstanz

NW $\hat{=}$ Normalwert

all R $\hat{=}$ allergischer Rhinitis

VR $\hat{=}$ Virusrhinitis

Sa $\hat{=}$ Sinusitis acuta

Einen gleichen Gehalt an Haptoglobin (0,7 % der Trockensubstanz) findet man sowohl bei Nasensekreten aus dem Normalkollektiv als auch bei allergischer Rhinitis. Leicht erhöht sind die Konzentrationen bei der Virusrhinitis und der Sinusitis acuta. Es werden Werte von 1 % der Trockensubstanz erreicht (Abb. 11; Tab. XI). Diese Unterschiede reichen für eine Abgrenzung einzelner Krankheitsbilder jedoch nicht aus, da die Streubereiche relativ groß sind.

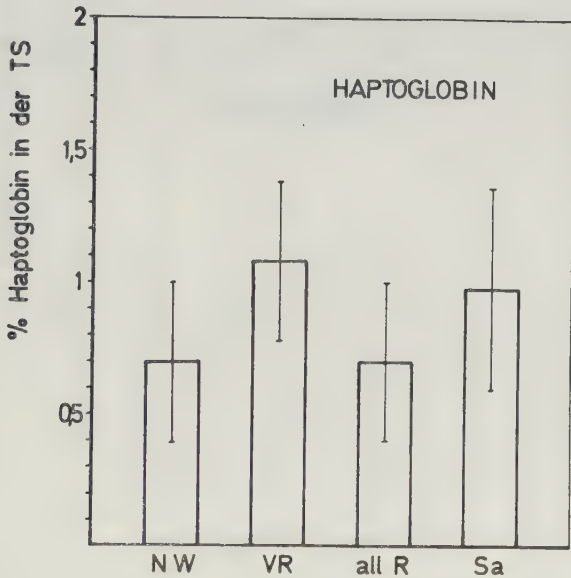


Abb. 11.

Gehalt des Nasensekrets an Haptoglobin (in Prozent der Trockensubstanz) im Normalkollektiv und bei verschiedenen Rhinopathien

TS $\hat{=}$ Trockensubstanz

NW $\hat{=}$ Normalwert

all R $\hat{=}$ allergischer Rhinitis

VR $\hat{=}$ Virusrhinitis

Sa $\hat{=}$ Sinusitis acuta

Die höchste Transferrinkonzentration erscheint im Nasensekret von Patienten mit allergischer Rhinitis. Sie beträgt etwas über 2 % der Trockensubstanz. Im Abstand von etwa 0,2 % nach unten folgen die Werte für Virusrhinitis, Sinusitis und das Normalkollektiv. Da die Streuung durchweg in einem größeren Bereich als 0,2 % liegt, können die einzelnen Krankheitsbilder nicht voneinander abgegrenzt werden (Abb. 12, Tab. XII).

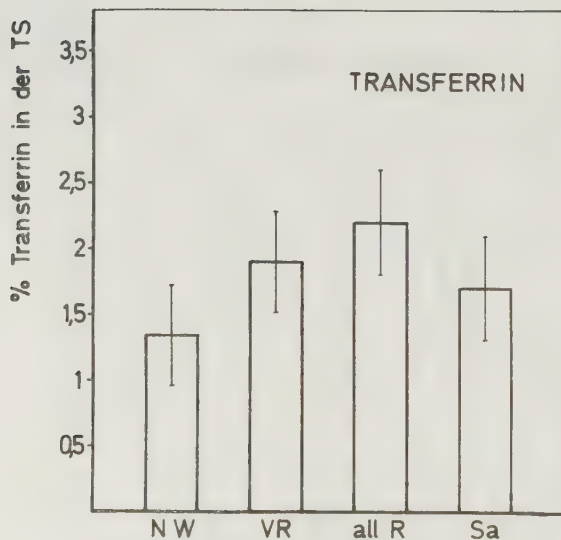


Abb. 12.

Gehalt des Nasensekrets an Transferrin (in Prozent der Trockensubstanz) im Normalkollektiv und bei verschiedenen Rhinopathien

TS $\hat{=}$ Trockensubstanz

NW $\hat{=}$ Normalwert

all R $\hat{=}$ allergischer Rhinitis

VR $\hat{=}$ Virusrhinitis

Sa $\hat{=}$ Sinusitis acuta

Das α_2 -Makroglobulin ist im Sekret bei allen drei untersuchten Erkrankungen gleichmäßig erhöht, und zwar auf 0,9 % der Trockensubstanz. Dies bedeutet einen Konzentrationsanstieg um 100 % gegenüber dem Wert im normalen Nasensekret (Abb. 13; Tab. XIII).

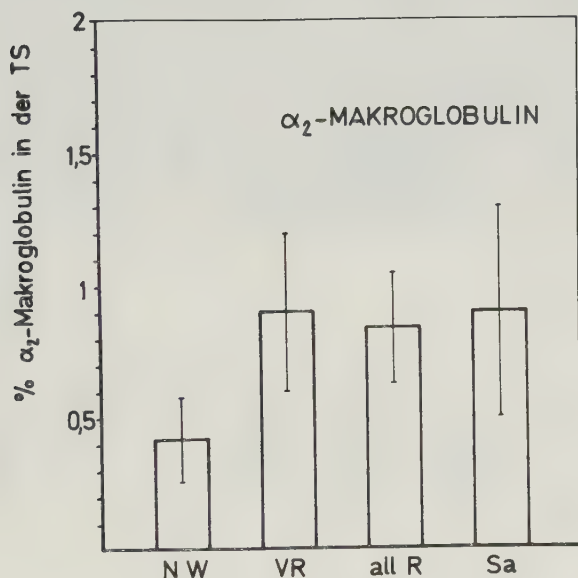


Abb. 13.

Gehalt des Nasensekrets an α_2 -Makroglobulin (in Prozent der Trockensubstanz) im Normalkollektiv und bei verschiedenen Rhinopathien

TS $\hat{=}$ Trockensubstanz

NW $\hat{=}$ Normalwert

all R $\hat{=}$ allergischer Rhinitis

VR $\hat{=}$ Virusrhinitis

Sa $\hat{=}$ Sinusitis acuta

Das α_1 -Antitrypsin zeigt ein ähnliches Bild wie das Makroglobulin mit einer Erhöhung der Konzentration auf rund das Doppelte bei den betrachteten Rhinopathien (Abb. 14; Tab. XIV). Die Werte in den pathologischen Sekreten unterscheiden sich untereinander wenig; sie setzen sich aber deutlich vom Normalkollektiv ab, das im Bereich zwischen 0,6 % und 1 % Trockensubstanz liegt.

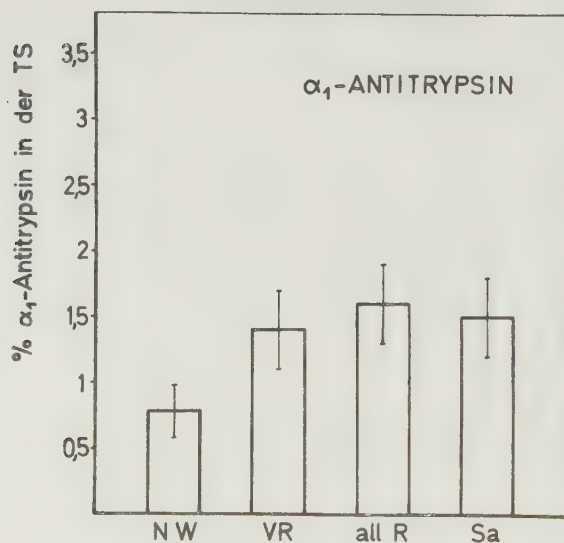


Abb. 14.

Gehalt des Nasensekrets an α_1 -Antitrypsin (in Prozent der Trockensubstanz) im Normalkollektiv und bei verschiedenen Rhinopathien

TS $\triangleq$ Trockensubstanz

NW $\triangleq$ Normalwert

all R $\triangleq$ allergischer Rhinitis

VR $\triangleq$ Virusrhinitis

Sa $\triangleq$ Sinusitis acuta

Der Gehalt an Saurem- α_1 -Glycoprotein im Nasensekret unterscheidet sich bei allen von uns untersuchten Patientengruppen kaum vom Normalwert, der bei etwa 0,4 % Trockensubstanz liegt. Die Konzentrationsdifferenzen zwischen den einzelnen Gruppen sind minimal (Abb. 15; Tab. XV).

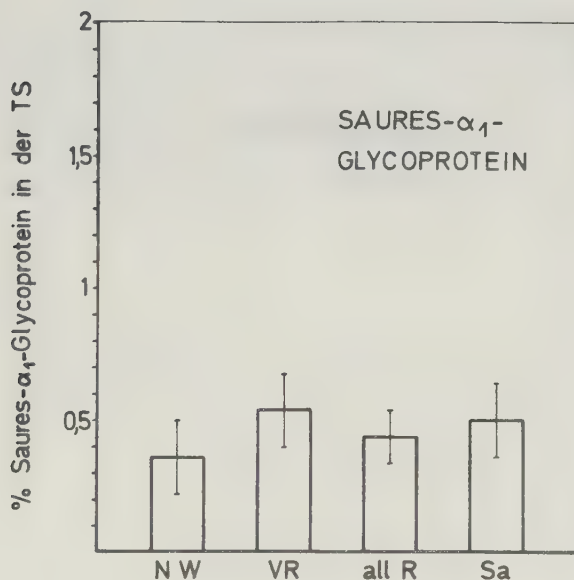


Abb. 15.

Gehalt des Nasensekrets an Saurem- α_1 -Glycoprotein (in Prozent der Trockensubstanz) im Normalkollektiv und bei verschiedenen Rhinopathien

TS $\triangleq$ Trockensubstanz

NW $\triangleq$ Normalwert

all R $\triangleq$ allergischer Rhinitis

VR $\triangleq$ Virusrhinitis

Sa $\triangleq$ Sinusitis acuta

Aus Abb. 16 und Tab. XVI wird ersichtlich, daß in pathologischen Sekreten der Gehalt an Inter- α -Trypsin-Inhibitor gering erhöht ist. Dieser Unterschied fällt aber nicht ins Gewicht, da sich die Streubereiche aller vier Gruppen überschneiden, obwohl die Streubreite gerade hier sehr klein ist.

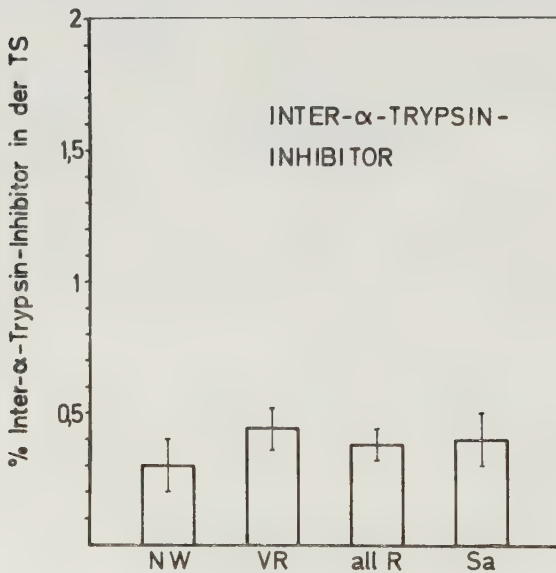


Abb. 16.

Gehalt des Nasensekrets an Inter- α -Trypsin-Inhibitor (in Prozent der Trockensubstanz) im Normalkollektiv und bei verschiedenen Rhinopathien

TS $\hat{=}$ Trockensubstanz

NW $\hat{=}$ Normalwert

all R $\hat{=}$ allergischer Rhinitis

VR $\hat{=}$ Virusrhinitis

Sa $\hat{=}$ Sinusitis acuta

Die Konzentration des α_2 -HS-Glycoproteins ist bei den drei untersuchten Erkrankungen doppelt so hoch wie der Normalwert. In Zahlen ausgedrückt bedeutet dies: Normalkollektiv 0,25 %, Virusrhinitis 0,55 %, allergische Rhinitis 0,45 % und Sinusitis ebenfalls 0,45 % (Abb. 17; Tab. XVII).

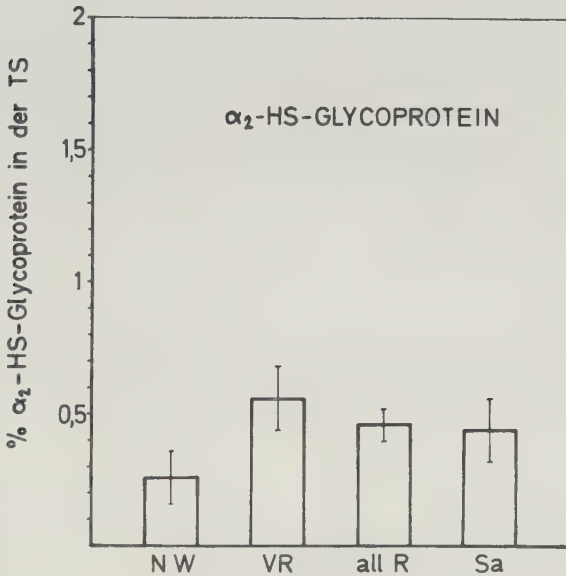


Abb. 17.

Gehalt des Nasensekrets an α_2 -HS-Glycoprotein (in Prozent der Trockensubstanz) im Normalkollektiv und bei verschiedenen Rhinopathien

TS $\hat{=}$ Trockensubstanz

NW $\hat{=}$ Normalwert

all R $\hat{=}$ allergischer Rhinitis

VR $\hat{=}$ Virusrhinitis

Sa $\hat{=}$ Sinusitis acuta

Das β_2 -Glycoprotein I kommt sowohl im Normalsekret als auch in den pathologischen Sekreten in sehr geringer Menge vor (0 - 0,2 % Trockensubstanz). Wahrscheinlich ist dies auch der Grund, warum Konzentrationsunterschiede zwischen den einzelnen Gruppen nicht festgestellt werden können (Abb. 18; Tab. XVIII).

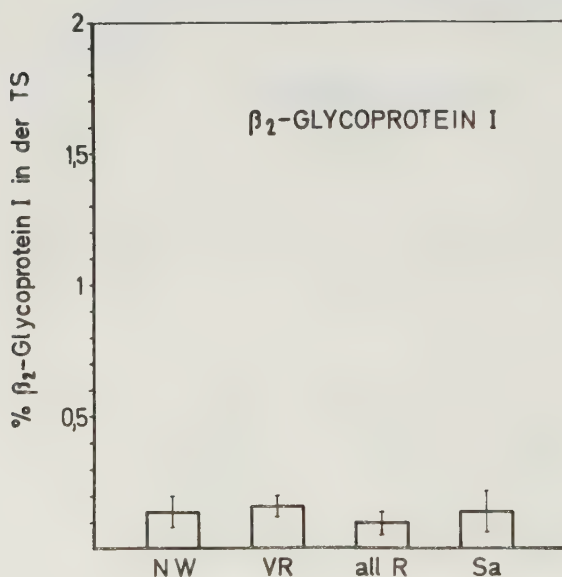


Abb. 18.

Gehalt des Nasensekrets an β_2 -Glycoprotein I (in Prozent der Trockensubstanz)² im Normalkollektiv und bei verschiedenen Rhinopathien

TS $\hat{=}$ Trockensubstanz

NW $\hat{=}$ Normalwert

all R $\hat{=}$ allergischer Rhinitis

VR $\hat{=}$ Virusrhinitis

Sa $\hat{=}$ Sinusitis acuta

III. Diskussion

Der Anteil der verschiedenen Plasmaproteine am Nasensekret gesunder Probanden stand im Mittelpunkt unseres Interesses. Aufgrund der Messungen lassen sich für die einzelnen Proteine folgende Normbereiche aufstellen:

Sekrettrockensubstanz	:	100	%	
Albumin	:	10	% - 28	%
Haptoglobin	:	0,4	% - 0,9	%
Transferrin	:	0,7	% - 2	%
α_2 -Makroglobulin	:	0,1	% - 0,8	%
α_1 -Antitrypsin	:	0,5	% - 0,9	%
Saures- α_1 -Glycop.	:	0,1	% - 0,4	%
Inter- α -Tryp. Inhibitor	:	0,1	% - 0,4	%
α_2 -HS Glycoprotein	:	0,1	% - 0,2	%
β_2 -Glycoprotein I	:	0	- 0,2	%

Man kann zwei Gruppen unterscheiden:

Während Haptoglobin, α_1 -Antitrypsin, Saures- α_1 -Glycoprotein, Inter- α -Tryp.Inh. und α_2 -HS Glycoprotein in einem relativ schmalen Bereich streuen, wird dieses Intervall bei Albumin, Transferrin, α_2 -Makroglobulin und β_2 -Glycoprotein I größer; hinzu kommt, daß bei den letzteren Proteinen kein Häufigkeitsmaximum festgestellt werden konnte.

Der Gehalt des normalen Nasensekrets an den Proteinen der ersten Gruppe ist also ziemlich konstant: Sie eignen sich daher gut als Bezugsgrößen für die Bestimmung anderer Substanzen (Enzyme, γ -Globuline etc). Diese Bezugsgrößen sind notwendig, da die normale Sekretion der Nasenschleimhaut Schwankungen unterworfen ist und sich ändert.

Besonders starke Änderungen der Sekretion treten natürlich bei Erkrankungen der Nase und ihrer Nebenhöhlen auf. Aus diesem Grund untersuchten wir auch die Plasmaproteine im Nasensekret von Patienten mit Virusrhinitis, allergischer Rhinitis und Sinusitis acuta. Bei der Auswertung der Ergebnisse stellt man fest, daß sich auch im pathologischen Sekret zwei Gruppen von Serumproteinen unterscheiden lassen.

1. Keine großen Konzentrationsdifferenzen zwischen normalen und pathologischen Werten treten auf bei Haptoglobin, Transferrin, Saurem- α_1 -Glycoprotein, Inter- α -Trypsin-Inhibitor und β_2 -Glycoprotein I. Auch sind sich die Konzentrationen bei den einzelnen Krankheitsbildern so ähnlich, daß man keine Differentialdiagnose daraus ableiten kann.
2. Rund um das Doppelte erhöht ist in pathologischen Sekreten der Gehalt an Albumin, α_2 -Makroglobulin, α_1 -Antitrypsin und α_2 -HS-Glycoprotein. Diese Erhöhung betrifft aber Virusrhinitis, allergische Rhinitis sowie Sinusitis gleichermaßen, so daß

auch hier eine Korrelation der gefundenen Werte zu einem bestimmten Krankheitsbild nicht erkennbar ist.

Wie schon erwähnt, können konstante Faktoren im Nasensekret gut als Bezugsgrößen verwendet werden. Der Kreis der Proteine, der dafür in Frage kommt, wurde durch die Messungen in pathologischen Sekreten weiter eingeschränkt: sowohl aufgrund ihrer niedrigen Streubereiche im Normalsekret als auch wegen geringer Differenzen zwischen normalem und pathologischem Sekret bieten sich hier Haptoglobin, Saures- α_1 -Glycoprotein und der Inter- α -Trypsin-Inhibitor besonders an.

Betrachtet man neben den Plasmaproteinen im Nasensekret auch die Proteinverhältnisse im Serum, so ergeben sich einige interessante Aspekte:

Beim Vergleich der Anteile einzelner Proteine am jeweiligen Gesamtproteingehalt wird deutlich, daß in beiden Körperflüssigkeiten das Albumin mengenmäßig dominiert. Während der Serumgehalt vom Transferrin, α_2 -Makroglobulin und α_1 -Antitrypsin annähernd gleich ist (200 - 400 mg %) und man ähnliches im Nasensekret erwarten müßte, gibt es hier Unterschiede (Transferrin 1,35 %, α_2 -Makroglobulin 0,4 %, α_1 -Antitrypsin 0,8 %). Durch Unterschiede in der Molekülgröße allein läßt sich diese Diskrepanz nicht erklären, und so weisen diese Verhältnisse in Richtung "selektive Transsudation", ein Vorgang, den R o s s e n (25) schon angedeutet hat.

Aus der Serumelektroporese ist der Begriff der "Akuten Phase" bekannt; sie ist durch eine Reihe von Verschiebungen im Bluteiweiß gekennzeichnet, die an sich alle unspezifisch sind, aber auf einen entzündlichen Prozeß hinweisen.

Ein typisches "Akute-Phase"-Serumbild würde folgendermaßen aussehen (29):

Albumin↓ , Transferrin↓
 α_1 -Antitrypsin↑ , Saures α_1 -Glycoprotein↑
Haptoglobin↑ , α_2 -HS-Glycoprotein↑ , α_2 -Makroglobulin↑

Aufgrund der Untersuchung des Nasensekrets bei verschiedenen entzündlichen Erkrankungen konnten wir feststellen, daß bei einem Teil der Plasmaproteine der Konzentrationsanstieg nur gering war, während andere Proteine ihren Gehalt im Sekret verdoppelten. Dieser Umstand ermöglicht es, ein Proteinmuster der "Akuten Phase" analog zum Serum im Nasensekret aufzustellen.

Albumin↑ , Transferrin (↑)
 α_1 Antitrypsin↑ , Saures α_1 -Glycoprotein→
Haptoglobin→, α_2 -HS-Glycoprotein↑ , α_2 -Makroglobulin↑

Albumin und Transferrin sind im Gegensatz zum Serum erhöht, wobei der Anstieg beim Albumin wesentlich ausgeprägter ist. Nicht verwunderlich ist die starke Zunahme von α_1 -Antitrypsin und α_2 -Makroglobulin im pathologischen Nasensekret. In ihrer Eigenschaft als Proteaseninhibitoren sind sie in der Lage, proteolytische Enzyme, die

aus Infektionserregern und beim Leukozytenzerfall freigesetzt werden, zu inaktivieren.

Welche Rolle das α_2 -HS Glycoprotein bei der akuten Entzündung spielt, ist noch nicht geklärt.

D) EXPERIMENTELLER TEIL

I. Patientenauswahl

Zur Untersuchung wurden zunächst Nasensekrete von gesunden Probanden herangezogen, bei denen Anamnese und Inspektion keine Hinweise auf eine Erkrankung im Nasen-Rachen-Raum boten.

Die pathologischen Sekrete stammten von Patienten, bei denen mittels Spiegelbefund, Röntgen-Diagnostik und eventueller Allergie-Testung folgende Erkrankungen festgestellt worden waren:

- Virusrhinitis
- allergische Rhinitis
- Sinusitis acuta

II. Sekretaufbereitung

Die Gewinnung des Nasensekrets erfolgte durch Einlegen von zwei mit physiologischer Kochsalzlösung getränkten Baumwolltampons. Verschiedene Gesichtspunkte müssen dabei berücksichtigt werden:

- a) Der Tampon darf nicht in die Nasengänge geschoben werden, sondern wird mit Hilfe eines Spekulum vorsichtig eingelegt.
- b) Die Watte soll einerseits Kontakt mit der Schleimhaut haben, andererseits darf sie keinen großen Druck auf das Epithel ausüben.
- c) Am günstigsten ist die Plazierung des Tampons zwischen mittlerer Muschel und Septum.

Nach 20 Minuten wurden die Wattetampons entfernt und das aufgesogene Sekret in Zentrifugalgläser mit 2 ml physiologischer Kochsalzlösung ausgewaschen.

Nach 10-minütiger Zentrifugation bei 4000 Umdrehungen wurde der Überstand in gewässerte Kollodiumhülsen eingefüllt und 24 Stunden gegen Aqua dest. dialysiert, um die gelösten Salze zu entfernen. Die anschließende Lyophilisation der einzelnen Sekretproben führte dann zur Sekretrockensubstanz, dem Ausgangsmaterial für unsere Messungen.

III. Die Sekretrockensubstanz

Um quantitative Bestimmungen durchführen zu können, mußte die Trockensubstanz mit Hilfe einer Analysenwaage exakt gewogen werden. Das Gewicht der einzelnen Proben differierte von 0,0015 g bis 0,138 g.

Wie sich später herausstellte, konnten bei der Immunelektrophorese Werte unter 2,5 mg nicht berücksichtigt werden. Proben über 10 mg verdünnten wir mit der doppelten Menge (200 μ l) Lösungsmittel, während ansonsten die Trockensubstanz in 100 μ l Stammpuffer (siehe "Reagentien") gelöst wurde. Anschließend zentrifugiert man bei 4000 Umdrehungen, um die unlöslichen Sekretbestandteile abzutrennen.

IV. Immunelektrophorese

1. Prinzip

Die Immunelektrophorese beruht auf Antigen-Antikörper-Präzipitationsreaktionen, die sichtbar werden, wenn Serumproteine elektrophoretisch in einem antikörperhaltigen Agarose-Gel wandern (5). Bei pH 8,6 ziehen die meisten Plasmaproteine zur Anode, während Antikörper unter diesen Bedingungen fast still liegen. Trifft ein Antigen nun auf seinen Antikörper, so bildet sich ein Niederschlag. Ist das Antigen im Überschuß, so erfolgt jedoch eine Wiederauflösung des Präzipitats und Weiterwanderung im elektrischen Feld.

Erst bei Antikörperüberschuß wird das Präzipitat unlösbar und kommt daher im Gel zur Darstellung, auch wenn die Elektrophorese weiterläuft.

Die Endposition einer Präzipitationslinie hängt demnach von der Antigenkonzentration ab. Bei Vergleich mit bekannten Antigenmengen erlaubt dieses Verfahren quantitative Messungen (30).

Bei der Methode nach L a u r e l l (14) enthält das Gel nur e i n e n , spezifischen Antikörper; es bilden sich "raketenähnliche" Präzipitate, deren Höhe von der Antigenkonzentration abhängig ist.

2. Reagentien und Geräte

- Agarose (Behringwerke AG)
- Puffer-Stammlösung
 - 77 g Na-Barbiturat
 - 13,8 g Barbitursäure
 - 1 g Na-azid
 - Löst man diese Substanzen in 5 l Aqua dest., so stellt sich ein p.H. von 8,6 ein.
- Laufpuffer
 - 1 l Stammpuffer + 1 l Aqua dest.
- Standard-Human-Serum (Behringwerke AG)
 - enthält unter anderem Albumin, Saures α_1 -Glycop., α_2 HS-Glycop., Haptoglobin, Macroglobin, Transferrin und β_2 -Glycoprotein I
- Standard-Human-Plasma (Behringwerke AG)
 - für die Bestimmung von α_1 -Antitrypsin und Inter- α -Trypsin Inhibitor
- Spezifische Antiseren gegen Human-Plasmaproteine (Behringwerke AG)
 - Anti-Albumin

Anti-Haptoglobin
Anti-Transferrin
Anti-Inter- α -Trypsin Inhibitor
Anti- α_1 -Antitrypsin
Anti-Saures- α_1 -Glycoprotein
Anti- α_2 -Makroglobulin
Anti- α_2 -HS-Glycoprotein
Anti- β_2 -Glycoprotein I

- Färbelösung

10 g Coomassieblau
900 ml Äthanol (96 %)
200 ml Eisessig
mit Aqua dest. auf 2 l auffüllen
und anschließend filtrieren

- Lösungsmittel zum Entfärben des Untergrunds

900 ml Äthanol (96 %)
200 ml Eisessig

3. Methode

a) Herstellung der Agargel-Platten

2 g Agarose werden in 100 ml Aqua dest. bis zur Bildung einer klaren Lösung im kochenden Wasserbad erhitzt und anschließend auf einer Asbestplatte noch einmal aufgeköcht. 2 ml der heißen Lösung pipettiert man in ein Zentrifugenglas, in dem sich schon 2 ml Stammpuffer und 200 μ l des jeweiligen Antiserums befinden.

Nach zweimaligem Schütteln wird der Inhalt des Reagenzgläschens schnell auf einen Objektträger (5 cm x 5 cm) aufgetragen. Um eine gleichmäßige Gelschicht auf dem Träger zu erhalten, liegt dieser auf einem ausnivellierten Tischchen völlig waagrecht.

Nach ungefähr 15 Minuten ist der Agar erstarrt und man kann mit Hilfe einer Schablone, einer Kanüle und der Wasserstrahlpumpe 8 Löcher ausstanzen, die gleichen Abstand voneinander haben. Diese Löcher liegen am unteren Rand des Objektträgers und sind für die Aufnahme der Sekretproben bzw. des Standardserums vorgesehen.

Für eine Versuchsreihe benötigt man 9 Objektträger, von denen jeder mit einem spezifischen antikörperhaltigen Agargel beschichtet ist.

b) Auftragen der Proben

Mit Hilfe einer Hamilton-Mikroliter-Spritze werden nun die Stanzlöcher gefüllt, und zwar die beiden ersten mit Standard-Human-Serum, die restlichen mit Sekretproben von 6 verschiedenen Patienten. Für die Bestimmung der Plasmaproteine im normalen Nasensekret hat sich aufgrund der Vorversuche das folgende Pipettierschema I als günstig erwiesen:

Agargel-Bestandteil	Standard-Human-Serum	Sekretproben
Anti-Albumin	1 : 32 verdünnt	Sekret 1 : 3 verdünnt
200 μ l	je 4 μ l	je 4 μ l

Agargel-Bestandteil	Standard-Human-Serum	Sekretproben
Anti-Haptoglobin 200 μ l	1 : 4 verdünnt je 4 μ l	je 4 μ l
Anti-Transferrin 200 μ l	1 : 4 verdünnt je 4 μ l	je 4 μ l
Anti-Inter- α - Trypsin Inh. 200 μ l	je 4 μ l	je 4 μ l
Anti- α_2 -Antitrypsin 200 μ l	1 : 4 verdünnt je 4 μ l	je 4 μ l
Anti-Saures- α_1 -Glyco- protein 200 μ l	1 : 4 verdünnt je 4 μ l	je 4 μ l
Anti α_2 -Makroglobulin 200 μ l	je 4 μ l	je 15 μ l
Anti α_2 -HS-Glyco- protein 200 μ l	je 4 μ l	je 15 μ l
Anti β_2 -Glycoprotein I 200 μ l	je 4 μ l	je 15 μ l

Bei der Untersuchung in pathologischen Sekreten führte der teilweise erhöhte Proteingehalt (= erhöhter Antigengehalt) zu Banden, die über den Rand des Objektträgers hinwegliefen und damit außerhalb des Meßbereichs lagen.

Im Pipettierschema II für pathologische Sekrete ist dieser Umstand berücksichtigt, und für folgende Proteinbestimmungen ergeben sich Änderungen:

Agargel-Bestandteil	Standard-Human-Serum	Sekretproben
Anti-Albumin 200 μ l	1 : 32 verdünnt je 4 μ l	1 : 16 verdünnt je 4 μ l
Anti- α_1 -Antitrypsin 200 μ l	1 : 4 verdünnt je 4 μ l	je 2 μ l
Anti- α_2 -Makroglobulin 200 μ l	je 4 μ l	je 8 μ l
Anti- α_2 -HS-Glycoprotein 200 μ l	je 4 μ l	je 8 μ l

Für die übrigen Plasmaprotein gilt auch in pathologischen Sekreten Pipettierschema I !

c) Elektrophorese

Nach Einfüllen von Standardserum und Sekretproben werden die Agaroseplatten auf dem wassergekühlten Steg zwischen den beiden Kammern des Immunelektrophoresetanks waagrecht nebeneinander angeordnet. Diese Kammern enthalten je 2 l Laufpuffer.

Angefeuchtete Filterpapierstreifen stellen auf jeder Seite die Verbindung zwischen Objektträgern und

Laufpuffer her. Es ist wichtig, daß diese Filterpapierstreifen fest auf der Agarschicht der Platten aufliegen, da sonst kein Strom fließt.

Die Spannung, die zur Proteinwanderung führt, beträgt 120 V; sie muß mindestens über einen Zeitraum von 8 Stunden angelegt werden.

d) Fixieren des Präzipitatbildes

Nach beendeter Elektrophorese werden die Agarplättchen mit saugfähigem Papier bedeckt und unter zunehmendem Druck gepreßt. Um den Trockenvorgang zu beschleunigen, wird das Papier zwischendurch erneuert und abschließend kann man die Plättchen unter Heißluft vollends trocknen.

Die Anfärbung der Präzipitate dauert etwa 10 Minuten und erfolgt in einem Tauchbad mit Färbelösung der angegebenen Zusammensetzung.

Nach Entfärben des Untergrunds mit einer geeigneten Lösung bietet sich dann folgendes Bild:

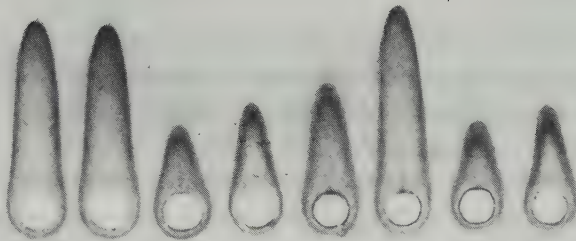


Abb. 19. Beispiel einer Elektrophorese in antikörperhaltigem Gel ("Raktenimmunelektrophorese").

Antigen: Sekretproben; in den Löchern 1 und 2
(von links) Standard-Human-Serum

Antikörper: Anti - Haptoglobin

4. Auswertung

Mit Hilfe von Millimeterpapier mißt man den Abstand vom Mittelpunkt der Löcher bis zur Spitze der Präzipitate. Da diese "Raketen-Höhe" der Antigenkonzentration (= Konzentration des speziellen Plasmaproteins) direkt proportional ist, vergleicht man Längenwert des

Standards (eventuell die beiden Werte mitteln) mit den Längen der Sekrete.

Bei bekanntem Antigengehalt des Standards ist damit die absolute Antigenmenge der einzelnen Sekretprobe leicht zu errechnen. Diese Absolutmenge kann man nun in Bezug setzen zur eingesetzten Sekretmenge und als Ergebnis erhält man den prozentualen Anteil des gesuchten Plasmaproteins an der Sekretrittrockensubstanz.

E) ZUSAMMENFASSUNG

Die quantitative Bestimmung der Plasmaproteine erfolgte zunächst im normalen Nasensekret. Mit Hilfe einer verbesserten Methode zur Sekretgewinnung und einer modifizierten Form der Immunelektrophorese konnten die Normbereiche für neun verschiedene Serumproteine aufgestellt werden.

Dabei zeigte sich, daß die Konzentrationen der einzelnen Proteine unterschiedlich stark streuen; während Haptoglobin, α_1 -Antitrypsin, Saures α_1 -Glycoprotein, Inter- α -Trypsin-Inhibitor und α_2 -HS-Glycoprotein ein deutliches Häufigkeitsmaximum erkennen ließen, war dies bei einer zweiten Gruppe mit Albumin, Transferrin, α_2 -Makroglobulin und β_2 -Glycoprotein I weniger ausgeprägt.

Die Untersuchung des Sekrets bei einer Reihe von Rhinopathien ergab, daß bei einem Teil der Plasmaproteine der Konzentrationsanstieg verglichen zu normalem Sekret nur gering war, während andere Proteine ihren Gehalt im pathologischen Sekret verdoppelten. Diese Erhöhung betraf aber alle Erkrankungen gleichermaßen, so daß eine Korrelation zu einem bestimmten Krankheitsbild nicht möglich war. Jedoch erlaubte es dieser Umstand, im Nasensekret ein "Proteinmuster der Akuten Phase" analog zum Serum aufzustellen.

Sowohl aufgrund ihrer niedrigen Streubereiche im Normalsekret als auch wegen geringer Differenzen zwischen normalem und pathologischem Sekret sind Haptoglobin, Saures α_1 -Glycoprotein und der Inter- α -Trypsin Inhibitor als Bezugsgrößen für die quantitative Bestimmung weiterer Substanzen im Nasensekret geeignet.

F) TABELLEN

Tabelle I

Ergebnisse der quantitativen Bestimmung von Albumin
im normalen Nasensekret in % Trockensubstanz:

11,5	27,5	15,5	16	26	25	26	10	13
19	12	11	11,5	13	17,5	20	21	11,5
24,5	15	16	20	19	27	20	26	16
19	19	26	24	19				

Mittelwert: 18,67 $\pm$ 5,36

Tabelle II

Ergebnisse der quantitativen Bestimmung von Haptoglobin
im normalen Nasensekret in % Trockensubstanz:

0,5	0,9	0,6	0,5	0,55	0,6	1,25	0,5	0,5	0,9
0,5	0,5	0,4	0,7	0,9	0,75	0,8	1,5	0,7	0,6
0,75	1,75	0,7	0,9	0,7	1,2	0,55	0,25	0,6	0,5
0,7	0,3								

Mittelwert: 0,72 $\pm$ 0,31

Tabelle III

Ergebnisse der quantitativen Bestimmung von Transferrin
im normalen Nasensekret in % Trockensubstanz:

0,9	1,9	1,1	0,85	2,1	1,6	1,35	0,8	1,2
1,5	1,3	0,8	1,1	1	1,7	0,9	1,9	1,1
1,4	1,6	1,1	1,6	1,8	2,1	1,6	1,9	0,9
1,2	0,8	1,5	1,7	0,8				

Mittelwert: 1,35 $\pm$ 0,4

Tabelle IV

Ergebnisse der quantitativen Bestimmung von α_2 -Makroglobulin
im normalen Nasensekret in % Trockensubstanz:

0,3	0,8	0,2	0,3	0,4	0,6	0,3	0,3	0,2	0,2
0,5	0,2	0,7	0,3	0,65	0,7	0,6	0,7	0,7	0,5
0,8	0,8	0,35	0,2	0,5	0,4	0,5	0,2		

Mittelwert: $0,46 \pm 0,21$

Tabelle V

Ergebnisse der quantitativen Bestimmung von α_1 -Antitrypsin
im normalen Nasensekret in % Trockensubstanz:

0,6	0,9	0,7	0,65	0,9	0,85	1	0,6	0,9	0,9
0,6	0,65	0,55	0,45	0,9	0,65	0,8	0,75	1	0,7
0,6	1,2	0,8	1,2	1,2	1,3	0,6	0,6	0,8	0,75
0,75	0,5								

Mittelwert: $0,79 \pm 0,21$

Tabelle VI

Ergebnisse der quantitativen Bestimmung von Saurem
 α_1 -Glycoprotein im normalen Nasensekret in %
Trockensubstanz:

0,2	0,2	0,3	0,3	0,5	0,4	0,6	0,25	0,25
0,35	0,25	0,2	0,2	0,2	0,3	0,3	0,55	0,45
0,45	0,2	0,2	0,4	0,3	0,5	0,35	0,45	0,3
0,3	0,35	0,4	0,35	0,2				

Mittelwert: $0,35 \pm 0,16$

Tabelle VII

Ergebnisse der quantitativen Bestimmung von Inter- α -Trypsin-Inhibitor im normalen Nasensekret in %

Trockensubstanz:

0,2	0,4	0,2	0,2	0,3	0,4	0,2	0,25	0,25	0,25
0,3	0,4	0,4	0,6	0,35	0,3	0,35	0,35	0,4	0,4
0,4	0,5	0,25	0,1	0,2	0,2	0,4	0,2		

Mittelwert: $0,31 \pm 0,11$

Tabelle VIII

Ergebnisse der quantitativen Bestimmung von α_2 -HS-Glycoprotein im normalen Nasensekret in %

Trockensubstanz:

0,2	0,5	0,3	0,15	0,2	0,25	0,2	0,15	0,15	0,3
0,2	0,4	0,2	0,2	0,3	0,2	0,3	0,3	0,4	0,4
0,5	0,2	0,1	0,2	0,25	0,2	0,2			

Mittelwert: $0,26 \pm 0,1$

Tabelle IX

Ergebnisse der quantitativen Bestimmung von β_2 -Glycoprotein I im normalen Nasensekret in % Trockensubstanz:

0,05	0,15	0,1	0,1	0,1	0,2	0,1	0,05	0,1	0,2
0,1	0,1	0,1	0,1	0,2	0,2	0,2	0,15	0,2	0,15

Mittelwert: $0,13 \pm 0,05$

Tabelle X

Ergebnisse der quantitativen Bestimmung von Albumin im Nasensekret bei verschiedenen Erkrankungen der Nase und ihrer Nebenhöhlen (Trockensubstanz $\cong$ 100 %)

Virusrhinitis	allergische Rhinitis	Sinusitis acuta
32,5 31 35	32 36,5 42	23 37,5 27,5
30 33,5 28,5	34 37,5	27 30 33,5
32	MW 36,4 $\pm$ 3,4	21 26 28,5
MW 31,78 $\pm$ 2,015		MW 28,22 $\pm$ 4,75

Tabelle XI

Ergebnisse der quantitativen Bestimmung von Haptoglobin im Nasensekret bei verschiedenen Erkrankungen der Nase und ihrer Nebenhöhlen (Trockensubstanz $\cong$ 100 %)

Virusrhinitis	allergische Rhinitis	Sinusitis acuta
0,7 0,9 1,5	1,15 0,5 0,3	0,9 1,15 1,4
1,4 0,8 1,25	0,4 1,15 0,7	1,2 0,9 1,45
0,7 1,5	0,75	0,8 1,05 0,9
MW 1,09 $\pm$ 0,33	MW 0,71 $\pm$ 0,31	0,5 0,6 0,7
		1,85 1,4 1,05
		0,45 0,35
		MW 0,98 $\pm$ 0,39

Tabelle XII

Ergebnisse der quantitativen Bestimmung von Transferrin
im Nasensekret bei verschiedenen Erkrankungen der Nase
und ihrer Nebenhöhlen (Trockensubstanz $\hat{=}$ 100 %)

Virusrhinitis	allergische Rhinitis				Sinusitis acuta		
2,0 1,8 1,75	2,35	1,8	1,85	2,25	1,9	1,9	2,1
1,4 2 1,8	2,7	2,8	1,9		1,75	2,5	1,45
2,8 1,6	MW 2,23 $\pm$ 0,37				1,95	2	1
MW 1,89 $\pm$ 0,39					2	1,4	1,7
					2,1	1,45	0,9
					1,2	1,6	
					MW 1,7 $\pm$ 0,41		

Tabelle XIII

Ergebnisse der quantitativen Bestimmung von α_2 -Makroglobulin
im Nasensekret bei verschiedenen Erkrankungen der Nase und
ihrer Nebenhöhlen (Trockensubstanz $\hat{=}$ 100 %)

Virusrhinitis	allergische Rhinitis				Sinusitis acuta		
0,8 0,9 0,7	1	0,6	0,8	0,8	1,55	1,4	1,6
1,65 0,65 0,75	1,05	0,95	0,6		1,05	1,1	1,4
MW 0,91 $\pm$ 0,34	MW 0,83 $\pm$ 0,17				0,95	1	0,5
					1,25	0,75	0,5
					0,7	0,4	0,35
					0,4	0,3	
					MW 0,89 $\pm$ 0,43		

Tabelle XIV

Ergebnisse der quantitativen Bestimmung von α_1 -Antitrypsin im Nasensekret bei verschiedenen Erkrankungen der Nase und ihrer Nebenhöhlen (Trockensubstanz $\hat{=}$ 100 %)

Virusrhinitis	allergische Rhinitis	Sinusitis acuta
1,2 1,1 1,9	1,45 1,5 1,35	1,4 1,05 1,75
1,5 0,9 1,45	2,2 1,7 1,35	1,6 1,9 1,3
1,7	MW 1,59 $\pm$ 0,29	1,55 1,1 1,3
MW 1,39 $\pm$ 0,32		1,6 2,15 1,15
		1,05 1,4
		MW 1,52 $\pm$ 0,33

Tabelle XV

Ergebnisse der quantitativen Bestimmung von Saurem α_1 -Glycoprotein im Nasensekret bei verschiedenen Erkrankungen der Nase und ihrer Nebenhöhlen (Trockensubstanz $\hat{=}$ 100 %)

Virusrhinitis	allergische Rhinitis	Sinusitis acuta
0,5 0,45 0,6	0,6 0,4 0,35	0,7 0,65 0,45
0,8 0,4 0,55	0,45	0,35 0,4 0,4
0,4 0,65	MW 0,45 $\pm$ 0,093	0,8 0,35 0,5
MW 0,54 $\pm$ 0,13		MW 0,51 $\pm$ 0,15

Tabelle XVI

Ergebnisse der quantitativen Bestimmung von Inter- α -Trypsin Inhibitor im Nasensekret bei verschiedenen Erkrankungen der Nase und ihrer Nebenhöhlen (Trockensubstanz $\pm$ 100 %)

Virusrhinitis	allergische Rhinitis			Sinusitis acuta		
0,5 0,5 0,45	0,4	0,35	0,3	0,6	0,45	0,35
0,5 0,35 0,35	0,45	0,4	0,35	0,45	0,4	0,45
MW 0,44 $\pm$ 0,067	MW 0,37 $\pm$ 0,048			0,3	0,5	0,35
				0,3	0,25	0,4
				0,3	0,4	
				MW 0,39 $\pm$ 0,09		

Tabelle XVII

Ergebnisse der quantitativen Bestimmungen von α_2 -HS-Glycoprotein im Nasensekret bei verschiedenen Erkrankungen der Nase und ihrer Nebenhöhlen (Trockensubstanz $\pm$ 100 %)

Virusrhinitis	allergische Rhinitis				Sinusitis acuta		
0,7 0,45 0,75	0,45	0,55	0,4	0,4	0,5	0,55	0,5
0,5 0,5 0,4	0,5	0,5	0,45		0,65	0,3	0,6
MW 0,55 $\pm$ 0,13	MW 0,46 $\pm$ 0,051				0,35	0,5	0,35
					0,5	0,4	0,2
					0,3	0,5	0,55
					0,4	0,4	
					MW 0,44 $\pm$ 0,12		

Tabelle XVIII

Ergebnisse der quantitativen Bestimmung von 132 -Glyco-
protein I im Nasensekret bei verschiedenen Erkrankungen
der Nase und ihrer Nebenhöhlen (Trockensubstanz $\hat{=}$ 100 %)

Virusrhinitis	allergische Rhinitis	Sinusitis acuta
0,2 0,15 0,2	0,2 0,1 0,05	0,25 0,1 0,25
0,15 0,1	0,1 0,05	0,2 0,1 0,2
MW 0,16 $\pm$ 0,03	MW 0,1 $\pm$ 0,054	0,15 0,1 0,1
		0,05 0,05 0,2
		0,2 0,05
		MW 0,14 $\pm$ 0,07

G) LITERATURVERZEICHNIS

1. Anderson, I., Riff, L. und Jackson G.: Immun-electrophoresis of Nasal Secretions Collected During A Common Cold. J. Immunol. 89 (1962) 691 - 697.
2. Butler, W. T., Rossen R. D., Waldman T. A.: Mechanism of appearance of immunoglobulin A in nasal secretions in man. J. Clin. Invest. 46 (1967) 1883 - 1893.
3. Daly, S.: Lysozyme of Nasal Mucus. Arch. Otolaryng. (Chicago) 27 (1938) 189.
4. Gottschalk, A.: The Glycoproteins - Their Composition, Structure and Function. Elsevier Amsterdam 1972.
5. Grabar, P.: Méthode Permettant L'Etude Conjugée Des Propriétés Electrophorétiques Et Immunochimiques D'Un Mélange De Protéines. Biochim. Biophys. Acta 10 (1953) 193.
6. Hilding, H.: The Physiology of Drainage of Nasal Mucus. Arch. Otolaryng (Chicago) 15 (1932) 92.
7. Hitzig, W. H.: Die Plasmaproteine in der klin. Medizin. 1. Aufl. - Berlin: Springer 1963.
8. Hochstraßer, K., Haendle H., Reichert R., Werle R.: Über Vorkommen und Eigenschaften eines Proteasen-inhibitors im menschlichen Nasensekret. Z. Physiol. Chem. 352 (1971) 954.

9. Hochstraßer K., Reichert R., Matner M., Werle E.: Hemmbarkeit proteolytischer Enzyme in path. Nasensekreten durch den natürlichen Proteaseninhibitor des Nasensekrets. Z. Klin. Chem. u. Klin. Biochem. 10 (1972) 104.
10. Hochstraßer K., Schuster R., Reichert R., Heimbürger N.: Nachweis und quantitative Bestimmung von Komplexen zwischen Leukozytenproteasen und Alpha-1-Antitrypsin in Körpersekreten und Körperflüssigkeiten. Z. Physiol. Chem. 353 (1972) 1120.
11. Ingelstedt, S., Ivstam B.: Source of nasal secretion in the normal condition. Acta Otolaryngol. (Stockh.) 37 (1949) 446 - 450.
12. Ingelstedt, S., Ivstam B.: Source of nasal secretion in infections, allergic and experimental condition. Acta Otolaryng. (Stockh.) 37 (1949) 451 - 455.
13. Kawai, T.: Clinical Aspects of The Plasmaproteins. 1. Aufl. - Berlin: Springer 1973.
14. Laurell, C. B.: Quantitative Estimation of Proteins by Electrophoresis in Agarose Gel Containing Antibodies. Anal. Biochem. 15 (1966) 45 - 52.
15. Lorin, M. et al.: Quantitative composition of nasal secretions in normal subjects. J. Lab. Clin. Med. 80 (1972) 275 - 281.
16. Masson, P. L., Carbonara, A. O.: Studies On The Proteins Of Human Saliva. Biochim. Biophys. Acta 107 (1965) 485 - 500.
17. Masson, P. L., Heremans, J.: Studies On The Proteins Of Human Bronchial Secretions. Biochim. Biophys. Acta 111 (1965) 466 - 478.

18. Mélon, J.: Contribution à l'étude de l'activité sécrétaire de la muqueuse nasale. Arch. Otorhinolaryng. Belg. 22 (1968) 1.
19. Messerklinger, W.: Die Schleimhaut der oberen Luftwege im Blickpunkt neuerer Forschung. Arch. Ohr.-Nas.- u. Kehlk. Heilk. 173 (1958) 1.
20. Mittermeier, R.: Die Rolle des Histamins bei Allergie und Infektion der Nasenschleimhaut. Fortschr. Hals- Nasen- Ohren-Heilk. 10 (1961) 164.
21. Mygind, N.: Diurnal variation of nasal protein concentration. Acta Otolaryngol. (Stockh.) 82 (1976) 219 - 221.
22. Mygind, N., Weehe B.: Quantitative Determination of Immunoglobulins in Nasal Secretion. Int. Archs. All. appl. Immun 49 (1975) 99 - 107.
23. Putnam, F. W.: The Plasma Proteins. 2. Aufl. - New York, London: Academic press 1976.
24. Remington, J. S., Vosti K.: Serum Proteins and Antibody Activity in Human Nasal Secretions. J. Clin. Invest. 43 (1964) 1613 - 24.
25. Rossen R. D., Schade A.: The Proteins in Nasal Secretion: A Longitudinal Study of the A-Globulin, Albumin, Siderophilin and Total Protein Concentrations in Nasal Washings from Adult Male Volunteers. J. Clin. Invest. 45 (1966) 768 - 776.
26. Rossen R. D. et al.: The Separation And Characterization Of Proteins Intrinsic To Nasal Secretion. J. Immunol. 97 (1966) 369 - 378.

27. Schorn, K.: Zur Enzymologie des Nasensekrets.
München, Med. Hab. v. 1978.
28. Schwick, H. G.: Die Vielfalt der menschlichen
Plasmaproteine und ihre Bedeutung für die Klinik.
Naturwiss. 61 (1974) 484 - 490.
29. Schwick, HG. Heide K.: Trends in human plasma
protein research. T. I. B. S. 2 (1977) 125 - 128.
30. Weeke, B.: Quantitative Immunelektrophorese I
"Raketenimmunelektrophorese". Ärztl. Lab. 18
(1972) 12 - 19.
31. Weisskopf, A., Bearn H. F.: The Ground Substance
of the Nasal Turbinates. Ann. Otol. (St. Louis)
67 (1958) 292.

LEBENS LAUF

Ich wurde am 14. Mai 1955 als erstes Kind des Tierarztes Dr. Erich Naumann und seiner Frau Barbara, geb. Ertlmaier in Mainburg geboren.

1961 - 1964	Volksschule in Mainburg
1965 - 1974	Besuch des Gabelsberger Gymnasiums Mainburg (math. nat. Gymnasium)
Juni 1974	Reifeprüfung
Nov. 1974 - Juli 1975	Studium der Humanmedizin an der Universität des Saarlandes in Saarbrücken
ab Nov. 1975	Weiterstudium an der Ludwig-Maximilians-Universität München
Aug. 1976	Ärztliche Vorprüfung
Nov. 1980	Ärztliche Prüfung
12.11.1980	Approbation

